

Роль метаболического статуса лимфоцитов в патогенезе ревматоидного артрита

Скупневский С.В., Пухаева Е.Г., Бадтиев А.К.,
Руруа Ф.К., Батагова Ф.Э., Фарниева Ж.Г.

ФГБУН «Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра
Российской академии наук, Владикавказ
Россия, 362025, Владикавказ, Пушкинская ул., 47

Цель исследования — изучение метаболических изменений лимфоцитов в динамике на модели адьювант-индуцированного ревматоидного артрита (РА) у теплокровных животных.

Материал и методы. Модель РА вызывали введением полного адьюванта Фрейнда (АФ) крысам-самцам линии Wistar. Коррекцию метаболизма лимфоцитов осуществляли смесью лимонной и янтарной кислот, которую вводили на протяжении 4 нед. (в дозах 17 и 88 мг/кг массы тела) с первого дня формирования модели. Животным контрольной группы подкожно вводили изотонический раствор натрия хлорида.

Определяли в динамике общее количество лейкоцитов, размеры лимфоцитов и активность в них лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ). Изменения опорно-двигательного аппарата оценивали рентгенографически и актометрически в модели «открытое поле».

Результаты и обсуждение. В первые 2 нед эксперимента в модельной группе животных отмечены повышение уровня лейкоцитов на 65% по сравнению с контролем ($p=0,002$), а также рост активности СДГ лимфоцитов на 51% и снижение общей («горизонтальной») подвижности животных на 30%. В последующем уровень лейкоцитов снижался на 25%, активность ЛДГ и СДГ — на 38%, радиус лимфоцитов — на 14% ($p<0,01$). Действие карбоновых кислот носило дозозависимый характер: при максимальной дозе статистически значимых различий в общем количестве лейкоцитов, активности ЛДГ и СДГ в лимфоцитах, а также их размерах между группой адьювант-индуцированного РА и контрольной группой не выявлено.

Заключение. У животных с адьювант-индуцированным РА коррекция метаболического статуса лимфоцитов смесью лимонной и янтарной кислот, являющихся ключевыми субстратами цикла Кребса, приводила к уменьшению структурных повреждений опорно-двигательного аппарата и, как следствие, к сохранению нормального объема движений.

Ключевые слова: воспалительный процесс; двигательная активность; лактатдегидрогеназа; лимонная кислота; метаболизм лимфоцитов; ревматоидный артрит; субхондральный склероз; сукцинатдегидрогеназа; энерготропный эффект; янтарная кислота.

Контакты: Сергей Валерьевич Скупневский; dreammas@yandex.ru

Для ссылки: Скупневский СВ, Пухаева ЕГ, Бадтиев АК и др.

Роль метаболического статуса лимфоцитов в патогенезе ревматоидного артрита. Современная ревматология. 2021;15(5):26–32.

DOI: 10.14412/1996-7012-2021-5-26-32

The role of the metabolic status of lymphocytes in the pathogenesis of rheumatoid arthritis

Skupnevsky S.V., Pukhaeva E.G., Badtiev A.K., Rurua F.K., Batagova F.E., Farnieva Zh.G.

Institute for Biomedical Research, Vladikavkaz Scientific Center, Vladikavkaz

47, Pushkin Street, Vladikavkaz 362025, Russia

Objective: to study in dynamics metabolic changes in lymphocytes on the model of adjuvant-induced rheumatoid arthritis (RA) in warm-blooded animals.

Material and methods. The RA model was elicited by administering Freund's complete adjuvant (AF) to male Wistar rats. Lymphocyte metabolism was corrected with a mixture of citric and succinic acids, which was injected for 4 weeks (at doses of 17 and 88 mg/kg body weight) from the first day of model formation. Animals of the control group were injected subcutaneously with isotonic sodium chloride solution.

The total number of leukocytes, the size of lymphocytes and the activity of lactate dehydrogenase (LDH) and succinate dehydrogenase (SDH) in these cells were determined. Changes in the musculoskeletal system were assessed radiographically and actometrically in the «open field» model.

Results and discussion. In the first 2 weeks of the experiment in the model group, an increase in the level of leukocytes by 65% compared to the control ($p=0.002$) was noted, an increase in the activity of lymphocytes SDH by 51% and a decrease in the total («horizontal») mobility of animals by 30% were also revealed. Subsequently, the level of leukocytes decreased by 25%, the activity of LDH and SDH — by 38%, the radius of lymphocytes — by 14% ($p<0.01$). The action of carboxylic acids was dose-dependent: at the maximum dose, no statistically significant differences in the total number of leukocytes, LDH and SDH activity in lymphocytes, as well as their sizes were found between the group with adjuvant-induced RA and the control group.

Conclusion. In animals with adjuvant-induced RA, correction of the metabolic status of lymphocytes with a mixture of citric and succinic acids, which are key substrates of the Krebs cycle, led to a decrease in structural damage of musculoskeletal system and, as a consequence, to the maintenance of normal range of motion.

Key words: inflammatory process; physical activity; lactate dehydrogenase; citric acid; lymphocyte metabolism; rheumatoid arthritis; subchondral sclerosis; succinate dehydrogenase; energotropic effect; succinic acid.

Contact: Sergey Valerievich Skupnevsky; dreammas@yandex.ru

For reference: Skupnevsky SV, Pukhaeva EG, Badtiev AK, et al. The role of the metabolic status of lymphocytes in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2021;15(5):26–32. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-5-26-32

Ревматоидный артрит (РА) — частое и наиболее тяжелое иммуновоспалительное заболевание, распространенность которого среди взрослого населения мира колеблется от 0,5 до 2% [1]. По данным ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», в России начало болезни приходится на 47–49 лет [2], т. е. на трудоспособный возраст, что наряду с высоким риском развития сопутствующих заболеваний, в первую очередь кардиоваскулярной патологии, и ранней инвалидизацией определяет большое медицинское и социально-экономическое значение РА [3]. В США ежегодные расходы на лечение одного пациента с РА без использования генно-инженерных биологических препаратов достигают 12 509 долл., а с их применением — 36 053 долл. [4].

В развитии заболевания большая роль отводится генетической предрасположенности [5] и факторам окружающей среды, преимущественно инфекциям [6]. О генетической детерминанте свидетельствуют высокий риск возникновения РА у кровных родственников больных, а также носительство мутаций HLA-DR4, выявляемое в 70% случаев при РА и лишь у 28% здоровых лиц [7].

В основе патогенеза РА, который может быть рассмотрен с позиции классической модели хронического воспаления, лежит нарушение баланса между синтезом про- и противовоспалительных цитокинов, которые вызывают поляризацию иммунного ответа по Th1-типу [8]. При этом в синовиальной оболочке суставов нарастает количество активированных Т- и В-лимфоцитов, а также тучных клеток и макрофагов, обеспечивающих в совокупности персистирующее течение хронического воспаления, следствием которого является окислительный стресс. Существенный вклад в развитие оксидативного стресса вносят клетки иммунной системы, вырабатывающие цитокины, провоцирующие в Т-лимфоцитах «окислительный взрыв» [9]. В результате в лимфоцитах нарушается окислительно-восстановительный баланс, происходит истощение эндогенных восстановительных субстратов, в первую очередь никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ) и глутатиона, что приводит к развитию митохондриальной дисфункции и репликативному старению Т-лимфоцитов с утратой ими способности к дифференцировке и пролиферации. Выявлено, что в субпопуляции Т-лимфоцитов устойчивость клеток к воздействию экстрацеллюлярных активных форм кислорода (АФК) уменьшается от эффекторных до регуляторных, «наивных» и, наконец, Т-лимфоцитов памяти [10].

Прямым следствием окислительного стресса является нарушение свойств биологических мембран. В классических работах Ю.А. Владимирова и А.И. Арчакова [11] было показано, что активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), в которой ключевую роль играют митохондрии, сопровождается увеличением объема клеток в результате роста клеточной проницаемости. В связи с этим оценка ширины распределения лимфоцитов по объему может отражать интегральные патологические сдвиги, обусловленные количественными изменениями в составе популяции клеток (да-

вление отбора по признаку устойчивости Т-клеток к АФК), а также в цитоплазматической мембране в результате ПОЛ, приводящего к набуханию клеток.

О центральной роли митохондрий в физиологии клеток иммунной системы свидетельствуют результаты исследований, которые выявили различные уровни энергообеспечения лимфоцитов в зависимости от их состояния и функции. В условиях нормального гомеостаза Т-клетки памяти удовлетворяют свои энергетические потребности за счет окисления жирных кислот и глюкозы, участвующих в процессе окислительного фосфорилирования. Для указанной субпопуляции лимфоцитов характерно слияние отдельных оргanelл и образование аномально укрупненных митохондрий. Другой их особенностью является постоянное поддержание высокого уровня энергообмена за счет внешне бессмысленного цикла: вырабатываемая АТФ идет в основном на синтез жирных кислот, которые вновь окисляются в цикле Кребса [10, 12], что объясняется необходимостью поддержания лимфоцитов в состоянии повышенной готовности к быстрой активации в ответ на антигенную стимуляцию. Вскоре после активации, начала клональной экспансии и дифференцировки лимфоциты меняют свой метаболический профиль на аэробный гликолиз для создания и сохранения высоких энергетических и пластических резервов клетки [10], необходимых для митоза и выработки информационных и других молекул.

Помимо описанных универсальных молекулярно-клеточных механизмов воспалительного процесса, у больных РА отмечаются изменения метаболического статуса тканей, непосредственно вовлеченных в патологический процесс. E. Sanchez-Lopez и соавт. [13] показали, что образование паннуса при РА сопровождается нарушением энергетического обмена в синовиальной оболочке, а введение 18F-фтордезоксиглюкозы при проведении позитронно-эмиссионной томографии позволяет выявлять воспаление в суставах на ранних стадиях заболевания. В качестве перспективных терапевтических мишеней могут выступать энергопродуцирующие органеллы, метаболомные преобразования в которых значительно модифицируют клинические проявления эрозивно-деструктивного полиартрита, доказательством чего является применение ингибитора митохондриальной дигидрооротатдегидрогеназы [14].

Таким образом, можно предположить, что коррекция метаболического статуса клеток за счет нормализации функций митохондрий субстратами цикла трикарбоновых кислот, обладающих дополнительными выраженными антиоксидантными свойствами, будет способствовать уменьшению клинических проявлений РА.

Для углубления знаний о патогенезе заболевания широко применяют лабораторный эксперимент, поскольку изменения, затрагивающие синовиальную оболочку, селезенку, лимфатические узлы, костный мозг и др. органы и системы, сложно отслеживать на тканях человеческого организма, особенно в динамике. Среди экспериментальных моделей, используемых для данных целей, классической является

адьювант-индуцированный РА, вызываемый путем субкутанного введения полного адьюванта Фрейнда (АФ) лабораторным животным [15–17].

Цель работы — изучение метаболических изменений лимфоцитов в динамике на модели адьювант-индуцированного РА у теплокровных животных.

Материал и методы. Исследования были проведены на крысах-самцах линии Wistar ($n=32$) с массой тела (м. т.) 420 ± 20 г в возрасте 24 мес (источник — ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово», Ленинградская область). Условия содержания животных отвечали стандартам для вивариев со световым режимом 12:12 и свободным доступом к корму и воде. При работе с грызунами придерживались правил и этических норм, описанных в руководстве National Research Council, 2011 г. [18] и ГОСТ Р53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» [19]. На проведение экспериментов получено разрешение этического комитета при Институте биомедицинских исследований РАН. В терминальной фазе эксперимента эвтаназию крыс осуществляли в CO_2 -затравочном боксе.

Дизайн эксперимента. Животные были разделены на четыре равные группы. Введение растворов и забор крови проводили под легким общим наркозом (Золетил, Франция). Крысам 1-й группы (негативный контроль, $n=8$) в правую заднюю конечность подкожно вводили изотонический раствор натрия хлорида в объеме 0,1 мл на 200 г м. т. У крыс 2-й группы (модель, $n=8$) формировали артрит путем однократного подкожного введения в правую заднюю конечность 0,1 мл на 200 г м. т. полного АФ (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, США). На основании результатов, полученных в ранее проведенных исследованиях [20], животным 3-й (опыт 1, $n=8$) и 4-й (опыт 2, $n=8$) групп с начала формирования индуцированной патологии (0,1 мл на 200 г м. т. АФ) на протяжении 4 нед 1 раз в день с едой вводили смесь лимонной и янтарной кислот в массовом соотношении 1:4. Доза кислот, нейтрализованных минеральной водой до $\text{pH}=7,5$, в 3-й группе составила 17 мг/кг м. т. (минимальная доза), а в 4-й — 88 мг/кг м.т. (максимальная доза).

Методики проведения исследований. Активность ферментов в лимфоцитах определяли цитобиохимическим методом [21]. Для этого 10 мкл крови наносили на предметные стекла и с помощью прибора Microscopy Vision (Австрия) готовили мазки. Полученные препараты высушивали, фиксировали в 60% растворе ацетона в течение 30 с и ополаскивали дистиллированной водой. Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) определяли как разницу показателей (№1 — №2) интенсивности окраски гранул, полученных при инкубации мазков крови в течение 1 ч при слабом перемешивании в растворах следующего состава ($\text{pH } 7,2 \pm 0,01$ при температуре 37°C): №1 — 125 ммоль/л KCl, 10 ммоль/л HEPES, 1 мг/мл нитросинового тетразолия окисленного (НСТ) и 5 ммоль/л янтарной кислоты; №2 — 125 ммоль/л KCl, 10 ммоль/л HEPES, 1 мг/мл НСТ и 5 ммоль/л малоновой кислоты, используемой в качестве селективного ингибитора СДГ. Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) определяли путем инкубации мазков крови в среде следующего состава ($\text{pH } 7,2 \pm 0,01$ при температуре 37°C): 125 ммоль/л KCl, 10 ммоль/л HEPES, 1 мг/мл НСТ, 5 ммоль/л молочной кислоты, 5 ммоль/л малоновой кислоты, 0,5 ммоль/л НАДФ. После инкубации (СДГ, ЛДГ) стекла промывали дистиллированной водой, высуши-

вали и окрашивали в 0,05% растворе нейтрального красного (в течение 8 мин), имеющего сродство к ядрам клеток. Препараты микроскопировали при увеличении 10×100 под масляной иммерсией. У каждой крысы исследовали по 100 клеток, которые для рандомизации отбирали из трех зон стекла: начальной, средней и финишной. Препараты фотографировали и обрабатывали в программе Bio Images (Пушино, Россия), позволяющей рассчитывать линейные характеристики клеток и их компартментов, а также вычислять количество образуемого маркера дыхательной активности митохондрий — диформаза (в у. е.).

Общее количество лейкоцитов определяли на автоматическом гематологическом анализаторе Mythic 22 (Польша). Двигательную активность животных изучали в стандартной модели открытого поля (ООО «НПК Открытая наука», Россия), изготовленной в виде круглой арены. Рентгеновские снимки получали на стационарном ветеринарном аппарате EsoRay Ultra 300V (Корея).

Статистическая обработка результатов. Рассчитывали среднее значение и стандартную ошибку среднего. Нормальность распределения оценивали по критерию Шапиро–Уилка и при положительном заключении сравнение гипотез осуществляли с помощью критерия Стьюдента, сравнивая между собой группы 1 и 2 (p_{1-2}), а также 2 и 4 (p_{2-4}), 3 и 4 (p_{3-4}). Значимыми считали различия при $p < 0,05$. Коэффициент корреляции вычисляли по методу Пирсона (r_{xy}) в программе Excel 2016.

Результаты. Введение экспериментальным животным АФ сопровождалось ожидаемым системным воспалительным ответом, маркером которого выступает общее количество лейкоцитов в крови (рис. 1). Ко 2-й неделе у животных 2-й группы наблюдался максимально выраженный лейкоцитоз: количество клеток увеличилось на 65% (относительно контроля) с последующим их уменьшением на 25% к концу 7-й недели (см. рис. 1). Модифицирующая роль субстратов цикла Кребса (смесь лимонной и янтарной кислот) проявилась снижением уровня лейкоцитов, вплоть до его нормализации в 4-й группе ($15,30 \pm 0,84 \cdot 10^9/\text{л}$) и в контроле ($13,68 \pm 0,86 \cdot 10^9/\text{л}$).

Метаболический профиль лимфоцитов, оцениваемый по активности в них ЛДГ, представлен на рис. 2. По мере развития заболевания отмечено падение энергетического обеспечения лимфоцитов. К концу 7-й недели активность ЛДГ в клетках животных 2-й группы снизилась на 30% по

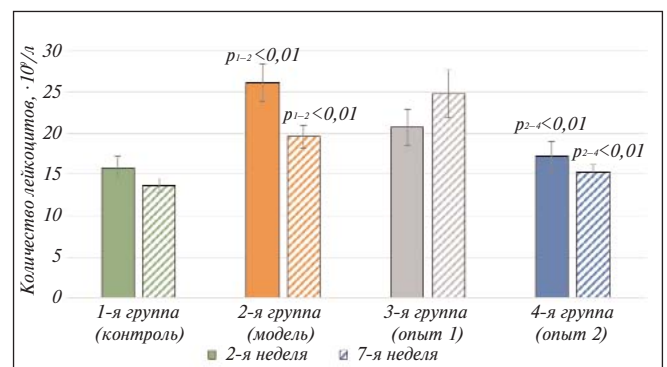


Рис. 1. Общее количество лейкоцитов в периферической крови у крыс

Fig. 1. The total number of leukocytes in the peripheral blood in rats

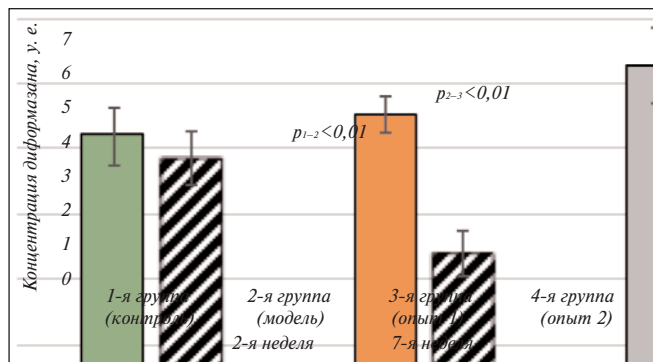


Рис. 2. Активность ЛДГ в лимфоцитах у теплокровных животных

Fig. 2. Activity of LDH in lymphocytes in warm-blooded animals

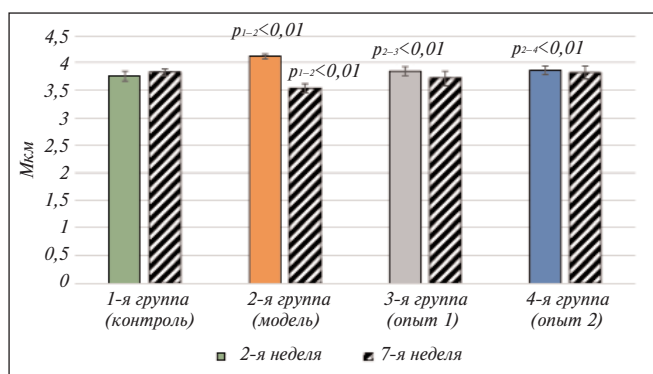


Рис. 3. Средний радиус лимфоцитов

Fig. 3. Average radius of lymphocytes

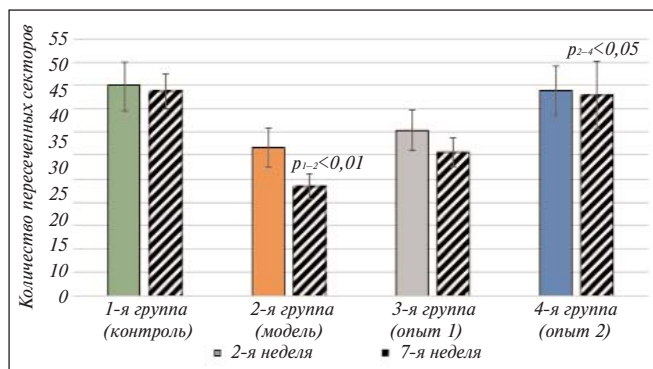


Рис. 4. Количественные измерения двигательной активности животных за 3 мин в модели «открытое поле»

Fig. 4. Quantitative measurements of the motor activity of animals for 3 min in the «open field» model

сравнению с таковой в контроле ($p < 0,01$). Введение животным смеси органических кислот, обладающих восстановительным потенциалом, способствовало поддержанию метаболического статуса иммунных клеток на уровне, отвечающем показателям здоровых крыс. На 7-й неделе статистически значимых различий между животными 3-й и 4-й групп и группы контроля не отмечено, разность сравниваемых параметров не превышала 11%.

Изучен характер изменений сукцинатоксидазного окисления за счет активности ключевого дыхательного

фермента – СДГ, – локализованного в митохондриях лимфоцитов. Значимых межгрупповых различий в сравниваемых показателях не выявлено. Ферментативная активность II дыхательного комплекса у животных контрольной группы колебалась в пределах $0,97 \pm 1,13 \pm 0,22$ у. е., что может отражать меняющиеся во времени физиологические потребности организма. В фазе острой воспалительной реакции (2 нед) в модельной группе активность СДГ повышалась на 51% ($1,71 \pm 0,32$ у. е.; $p_{1-2} = 0,196$) и на 30% в группе с минимальной концентрацией карбоновых кислот (значения для 3-й группы составили $1,47 \pm 0,24$ у. е.; $p_{2-3} = 0,555$); по мере эволюции заболевания данный показатель имел тенденцию к снижению: в 1-й группе – на 38% и в 3-й и 4-й группах – на 10–25% ($p_{1-2} = 0,288$, $p_{2-3} = 0,835$, $p_{2-4} = 0,708$). При этом энергообеспечение иммунных клеток в группе с максимальной дозой карбоновых кислот сохранялось стабильным и соответствовало контрольному уровню ($0,95 \pm 1,05 \pm 0,18$ у. е.).

Результаты измерения радиуса лимфоцитов, без разделения их на субпопуляции, отражены на рис. 3. Размах вариативности размеров клеток иммунной системы на фоне индуцированной патологии был шире, чем у контрольных животных. В первом случае он составил 16% (различия между 2-й и 7-й неделями, 2-я группа), во втором – 1,8% (контроль). На фоне введения субстратов цикла лимонной кислоты ширина распределения лимфоцитов по диаметру сокращалась и не превышала 1,0% для максимальной дозы и 3,4% для минимальной (см. рис. 3).

По данным корреляционного анализа была установлена связь средней силы между активностью ЛДГ и радиусом клеток ($r_{xy} = 0,69$), а также сильная связь между СДГ и радиусом клетки ($r_{xy} = 0,70$).

Следствием иммунотоксического воздействия АФ и обусловленной им аутоиммунной патологии явилось снижение объема перемещений животных в пространстве (рис. 4). Развитие адьювантного артрита у животных сопровождалось прогрессирующим сокращением актометрических показателей, которое было особенно заметно к окончанию 7-й недели в группе с модельной патологией ($p < 0,001$ по сравнению с контролем). Воздействие карбоновых кислот на метаболический статус организма и, в частности, лимфоцитов привело к дозозависимой коррекции структуры перемещений животных, что является объективным отражением нормализации работы опорно-двигательного аппарата. Так, на 7-й неделе в группе с максимальной дозой веществ, вводимых на фоне адьювантного артрита, количество пересеченных секторов совпало с контрольными значениями ($43,0 \pm 7,2$ и $43,9 \pm 3,7$ соответственно; см. рис. 4).

На рис. 5 приведены рентгенограммы животных, выполненные после завершения эксперимента (7 нед). По данным рентгенологического исследования у животных контрольной группы патологических изменений в суставах не обнаружено. У животных модельной группы выявлялись неравномерное сужение суставных щелей, субхондральный склероз, а также кистовидные просветления в головках бедренных и берцовых костей. Животные, получавшие с рационом лимонную и янтарную кислоты, имели незначительные изменения суставов, характеризовавшиеся неравномерным сужением суставных щелей и наличием мелких кистовидных просветлений (см. рис. 5).

Обсуждение. Введение теплокровным животным АФ, представляющего собой эмульсию термически инактивированных туберкулезных бактерий, вызывает антигенную гиперстимуляцию, срыв иммунологической толерантности и, как следствие, развитие аутоиммунного РА. Резкое увеличение общего количества лейкоцитов, выявленное в крови модельных животных, служит индикатором острого начала индуцированной патологии, которая затем трансформируется в хронический воспалительный процесс. О ведущей роли метаболического статуса лимфоцитов в механизме развития заболевания свидетельствует то, что в условиях его коррекции смесью лимонной и янтарной кислот признаки манифестации РА значительно уменьшались, вплоть до полного нивелирования отдельных патогенетических проявлений: у животных, получивших максимальную дозу карбоновых кислот, не отмечено случаев субхондрального склероза суставных поверхностей, свойственного крысам 2-й (модельной) группы, а возникшие изменения костно-суставной системы были обратимыми. Уменьшение структурных повреждений опорно-двигательного аппарата под действием карбоновых кислот способствовало сохранению объема движений, соответствующего показателям контрольной группы. При этом модифицирующий эффект носил дозозависимый характер, что позволяет считать нормализацию энергетической функции митохондрий перспективной терапевтической мишенью при РА.

Коррекция метаболического статуса иммунных клеток цитрат-сукцинатной смесью привела к нормализации размеров лимфоцитов. Выявленная связь между радиусом клеток и активностью в них ЛДГ и СДГ отражает важную роль энергообеспечения лейкоцитов в поддержании их морфофункциональной структуры и осуществлении иммунологических реакций. Так, по данным отечественных исследований, метаболический статус лимфоцитов является определяющим фактором в выборе пути их дифференцировки и регуляции пролиферации [22]. Активированные клетки нуждаются в повышенном уровне АТФ и перестраивают программу энергопродукции с окислительного фосфорилирования на преимущественный аэробный гликолиз, обеспечивающий 100-кратный выигрыш в скорости производства макроэргов. В этом аспекте наблюдаемая активация ЛДГ в начальной фазе модельной патологии, фиксируемая на фоне общего лейкоцитоза, отражает возросшие потребности клеток в быстрых формах энергии. Длительное поддержание организмом повышенного энергопотребления в условиях патологии оказывается невозможным, поэтому при

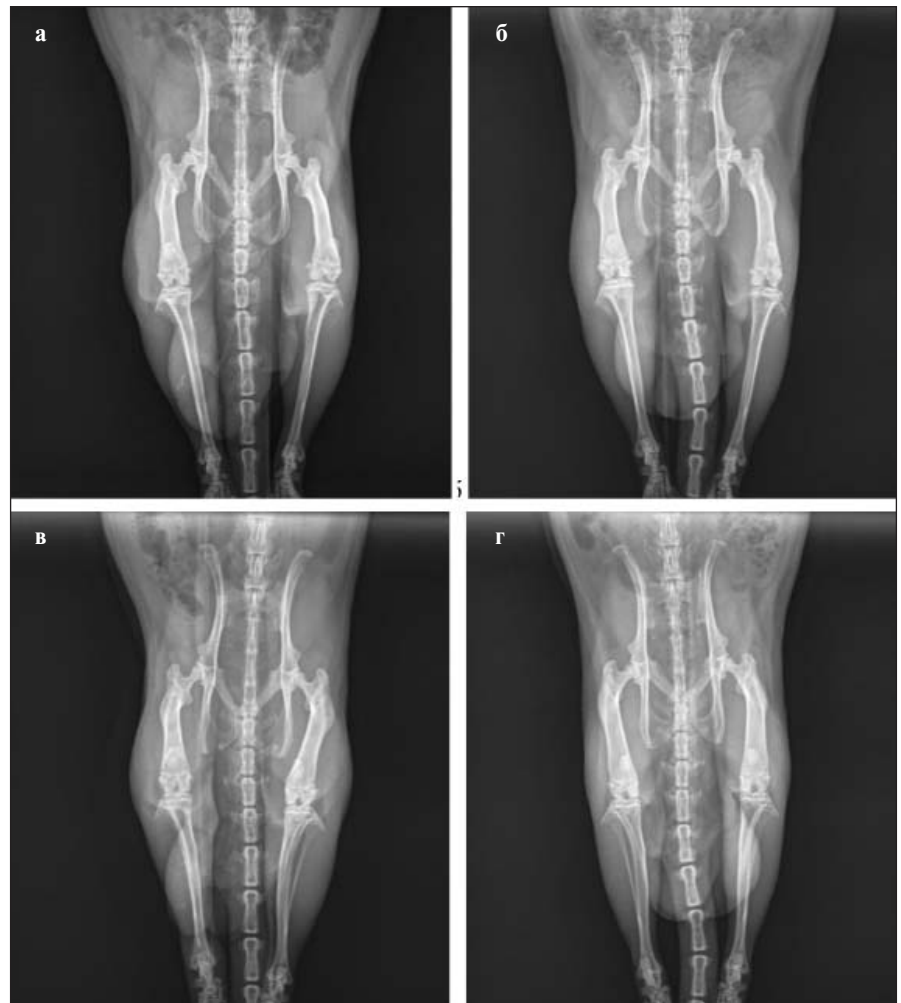


Рис. 5. Рентгенологическое исследование животных: а — 1-я группа (контроль); б — 2-я группа (модель); в, г — 3-я и 4-я группы (животные, получавшие смесь лимонной и янтарной кислот в минимальной и максимальной дозах соответственно)
Fig. 5. X-ray examination of animals: а — 1st group (control); б — 2nd group (model); в, г — groups 3 and 4 (animals that received a mixture of citric and succinic acids in minimum and maximum doses, respectively)

болезни формируется энергетический дефицит. Таким образом, введение животным в составе базисной терапии РА цитрат-сукцинатной смеси, оказывающей антиоксидантное, антиацидотическое, мембраностабилизирующее действие, в которой янтарная кислота является единственной молекулой, способной передавать водород на дыхательную цепь митохондрий даже в критических условиях (например, при гипоксии [23]), может способствовать поддержанию нормального клеточного гомеостаза при аутоиммунной патологии и снижению тяжести заболевания.

В основе наблюдаемого саногенетического эффекта сукцинат-цитратной смеси на организм животных может лежать купирование процессов ПОЛ, являющегося неизбежным следствием любого воспалительного процесса. Поступление в организм эффективных антиоксидантов в виде лимонной и янтарной кислот способствует повышению общего антиоксидантного статуса и сохранению свойств биологических мембран клеток, в том числе вовлеченных в патологический процесс. Это содействует поддержанию нормального двустороннего мембранного транспорта, а также

работы глюкозных транспортеров, что в условиях патологии позволяет клеткам обеспечивать требуемый повышенный энергетический баланс (рост энергопотребления определяется необходимостью дифференцировки и пролиферации лимфоцитов, их миграции к очагу воспаления и последующими высокими объемами выработки цитокинов и других биологически активных веществ). Первичным и наиболее доступным источником энергии в данном случае выступает глюкоза [22], поэтому отмеченное повышение уровня ЛДГ в лимфоцитах крыс на начальной стадии заболевания может отражать процессы первичной адаптации. Дальнейшее развитие патологии сопровождается декомпенсацией и снижением энергетического потенциала за счет инактивации ЛДГ и СДГ, что полностью отвечает классическим схемам ста-

дийности процессов «преддепрессивной гиперативности / тотального повреждения клетки» [24]. Введение карбоновых кислот в максимальной дозе может скорректировать энергетический статус лимфоцитов за счет увеличения уровня цитозольного цитрата, являющегося предшественником жирных кислот (дополнительный мембраностабилизирующий эффект), и поддержания работы цикла Кребса субстратами окислительного фосфорилирования.

Заключение. У животных с адьювант-индуцированным РА коррекция метаболического статуса лимфоцитов смесью лимонной и янтарной кислот, ключевых субстратов цикла Кребса, приводило к уменьшению структурных повреждений опорно-двигательного аппарата и, как следствие, к сохранению нормального объема движений.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2002;4 Suppl 3(Suppl 3):S265-72. doi: 10.1186/ar578. Epub 2002 May 9.
2. http://www.revmo-nadegda.ru/sites/default/files/file_files/revmatoidnyy_artrit_versiya_2015.pdf
3. Jagpal A, Navarro-Millan I. Cardiovascular co-morbidity in patients with rheumatoid arthritis: a narrative review of risk factors, cardiovascular risk assessment and treatment. *BMC Rheumatol.* 2018 Apr 11;2:10. doi: 10.1186/s41927-018-0014-y. eCollection 2018.
4. Hsieh PH, Wu O, Geue C, et al. Economic burden of rheumatoid arthritis: a systematic review of literature in biologic era. *Ann Rheum Dis.* 2020 Jun;79(6):771-7. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-216243. Epub 2020 Apr 3.
5. Mikhaylenko DS, Nemtsova MV, Bure IV, et al. Genetic Polymorphisms Associated with Rheumatoid Arthritis Development and Antirheumatic Therapy Response. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 11;21(14):4911. doi: 10.3390/ijms21144911.
6. Listing J, Gerhold K, Zink A. The risk of infections associated with rheumatoid arthritis, with its comorbidity and treatment. *Rheumatology (Oxford).* 2013 Jan;52(1):53-61. doi: 10.1093/rheumatology/kes305. Epub 2012 Nov 28.
7. Никулина СЮ, Чернова АА, Большакова ТЮ и др. Гены предрасположенности к ревматоидному артриту. Сибирское медицинское обозрение. 2014;(3):11-8. [Nikulina SYu, Chernova AA, Bol'shakova TYu, et al. Genes for predisposition to rheumatoid arthritis. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie.* 2014;(3):11-8. (in Russ.)].
8. Насонов ЕЛ, Насонова ВА, редакторы. Ревматология: национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2010. 720 с. [Nasonov EL, Nasonova VA, editors. *Revmatologiya: natsional'noe rukovodstvo* [Rheumatology. National guidelines]. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. 720 p.].
9. Hussain T, Tan B, Yin Y, et al. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016:7432797. doi: 10.1155/2016/7432797. Epub 2016 Sep 22.
10. Moro-Garcia MA, Mayo JC, Sainz RM, et al. Influence of Inflammation in the Process of T Lymphocyte Differentiation: Proliferative, Metabolic, and Oxidative Changes. *Front Immunol.* 2018 Mar 1;9:339. doi: 10.3389/fimmu.2018.00339. eCollection 2018.
11. Владимиров ЮА, Арчаков АИ. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. Москва: Наука; 1972. 252 с. [Vladimirov YuA, Archakov AI. *Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranakh* [Lipid peroxidation in biological membranes]. Moscow: Nauka; 1972. 252 p.].
12. Almeida L, Lochner M, Berod L, Sparwasser T. Metabolic pathways in T cell activation and lineage differentiation. *Semin Immunol.* 2016 Oct;28(5):514-24. doi: 10.1016/j.smim.2016.10.009. Epub 2016 Nov 4.
13. Sanchez-Lopez E, Cheng A, Guma M. Can Metabolic Pathways Be Therapeutic Targets in Rheumatoid Arthritis? *J Clin Med.* 2019 May 27;8(5):753. doi: 10.3390/jcm8050753.
14. Padda IS, Goyal A. Leflunomide. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan. 2021 May 24.
15. Asquith DL, Miller AM, McInnes IB, et al. Animal models of rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol.* 2009 Aug;39(8):2040-4. doi: 10.1002/eji.200939578.
16. Hong JI, Park IY, Kim HA. Understanding the Molecular Mechanisms Underlying the Pathogenesis of Arthritis Pain Using Animal Models. *Int J Mol Sci.* 2020 Jan 14;21(2):533. doi: 10.3390/ijms21020533.
17. Таранов ОС, Якубицкий СН, Непомнящих ТС и др. Индуцированный адьювантом артрит у морских свинок. *Acta naturae.* 2016;8(4):119-26. [Taranov OS, Yakubitskii SN, Nepomnyashchikh TS, et al. Adjuvant-induced arthritis in guinea pigs. *Acta naturae.* 2016;8(4):119-26. (in Russ.)].
18. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>
19. http://vnipchi.rosпотребнадзор.ru/s/203/files/ND/safety/95493_486.pdf
20. Бадтиев АК, Скупневский СВ, Пухаева ЕГ и др. Корректирующий эффект смеси лимонной и янтарной кислот в модели индуцированного аутоиммунного ревматоидного артрита у крыс. Современные проблемы науки и образования. 2020;(6):176. [Badtiev AK, Skupnevskii SV, Pukhaeva EG, et al. The corrective effect of a mixture of citric and succinic acids in a model of induced autoimmune rheumatoid arthritis in rats. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2020;(6):176. (In Russ.)].
21. <http://www.freepatent.ru/images/patents/100/2364868/patent-2364868.pdf>
22. Шейбак ВМ, Павлюковец АЮ. Биохимическая гетерогенность Т-лимфоцитов. Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2018;17(6):7-17. [Sheibak VM, Pavlyukovets AYU. Biochemical heterogeneity of T-lymphocytes. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta.* 2018;17(6):7-17. (In Russ.)].
23. Lin AP, Anderson SL, Minard KI, et al. Effects of excess succinate and retrograde control of metabolite accumulation in yeast tricarboxylic cycle mutants. *J Biol Chem.* 2011 Sep 30;286(39):33737-46. doi: 10.1074/jbc.M111.266890. Epub 2011 Aug 12.
24. Цыганский РА. Физиология и патология животной клетки. Санкт-Петербург, Москва, Краснодар: Лань; 2009. 172 с. [Tsyganskii RA. *Fiziologiya i patologiya zhivotnoi kletki* [Physiology and pathology of the animal cell]. Saint-Petersburg, Moscow, Krasnodar: Lan'; 2009. 172 p.].

Поступила/отрецензирована/принята к печати
Received/Reviewed/Accepted
29.06.2021/22.08.2021/25.08.2021

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Скупневский С.В. <http://orcid.org/0000-0002-6233-5944>
Пушаева Е.Г. <https://orcid.org/0000-0002-0850-2537>
Бадтиев А.К. <https://orcid.org/0000-0001-5850-5173>
Руруа Ф.К. <https://orcid.org/0000-0001-9424-0467>
Батагова Ф.Э. <https://orcid.org/0000-0001-9105-0350>
Фарниева Ж.Г. <https://orcid.org/0000-0002-9154-4729>